

Acta Medica Okayama

Volume 2, Issue 3

1930

Article 6

APRIL 1931

Die Gallensaurebildung (4). Okara aus Sojabohnen und die Gallensaureausscheidung

Saburo Higashi*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut, Okayama.
(Vorstand: Prof. Dr. T. Shimizu.)

Die Gallensäurebildung (4).
Okara aus Sojabohnen und die Gallensäureausscheidung.

Von

Saburo Higashi.

Eingegangen am 31. Januar 1931.

In den vorigen Mitteilungen (1930) habe ich schon erwähnt, dass die perorale Zufuhr des Ergosterins bzw. des mit Ultraviolettstrahlen bestrahlten Ergosterins die Gallensäuremenge der Lebergalle des eine Gallenblasenfistel tragenden Hundes vermehrt, dass dagegen die des bestrahlten ebenso wie des unbestrahlten Ergosterinbenzoates keinen Einfluss auf die Gallensäureausscheidung ausübt.

Auf Grund der Daten habe ich dabei die Ansicht ausgesprochen, dass die Gallensäure aus diesen Sterinen in der Leber gebildet werden dürfte, und weiter habe ich dabei festgestellt, dass die unversehrte sekundäre Alkoholgruppe im Sterinmoleküle für die vermehrte Gallensäureausscheidung aus der Leber notwendig zu sein scheint.

Neuerdings wurde durch die Untersuchungen von *Fukase* und *Fuziware* (1930) festgestellt, dass die Glykocholeinsäure in der Blaugalle des Kaninchens ungefähr auf das 4 fache vermehrt wird, wenn die Kaninchen mit Okara anstatt mit grünen Gräsern gefüttert werden. Auf Grund der Daten kann man wohl zu der Ansicht kommen, dass das Okara als Futter mehr Muttersubstanzen für die Gallensäurebildung in der Leber enthalten dürfte als grüne Gräser.

Das Okara wird aus Sojabohnen in der Weise bereitet, dass das zermahlene Sojabohnenmehl in Wasser unter Erwärmung gerührt, durch die Leinwand kolliert und ausgepresst wird.

In Jahre 1928 haben *Izume*, *Yoshimaru* und *Komatsubara* bewiesen, dass Sojabohnenöl bei Ratten eine antirachitische Wirkung hat und dass diese Wirkung des Sojabohnenöls durch die Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen gesteigert wird. Somit dürfte das Vitamin D bzw. das Provitamin D (Ergosterin), das, wie ich bereits in den vorigen Mitteilungen nachgewiesen habe, die Gallensäureausscheidung in der Lebergalle zu vermehren vermag, im Sojabohnenöl enthalten sein.

In diesem Sinne habe ich einem Hunde mit permanenter Gallenblasenfistel Nahrung in Form des alkoholischen Extraktes von Okara

zugeführt und dabei gefunden, dass die Gallenmenge sowie Gallensäureausscheidung durch seine Zufuhr gesteigert wird (Siehe Tabelle 1).

Wenn die Sterine in den Pflanzennahrungen sich an der Gallensäurebildung in der Leber beteiligen können, so müsste die Zufuhr der unverseifbaren Anteile des alkoholischen Extraktes von Okara die Gallen- und Gallensäureausscheidung in der Lebergalle vermehren, obwohl die verschiedenen Sterine in Okara enthalten sein dürften. Was die Sterine in Sojabohnen anbelangt, so haben *Mathes* u. *Dahle* (1911) sowie *Keimatsu* (1911) gefunden, dass im unverseifbaren Anteile der Sojabohnen Stigmasterin vorkommt.

Aus dem methylalkoholischen Extrakte der unverseifbaren Anteile der alkoholischen Extrakte von Okara habe ich eine in durchsichtigen Tafeln kristallisierende weisse Masse erhalten.

Nach der Methode von *Windaus* und seinen Mitarbeitern (1906, 1924) wurden aus der Kristallmasse ein neues Sterin (Azetatbromid F. P. 157°C) und ein Stigmasterin als Azetatbromverbindungen isoliert. Diese Kristallmasse hat keinen Einfluss auf die Gallen- und Gallensäureausscheidung, wie aus Versuch 2 der Tabelle 3 ersichtlich. Dieses Ergebnis stimmt gut mit denen von *Schönheimer* (1929) überein. Wie die Versuche 1 und 2 der Tabelle 2 zeigen, wird die Gallen- und Gallensäureausscheidung infolge der Zufuhr des Ätherextraktes durch die von Fettsäure befreiten, mit einem Sterine und Stigmasterin gemischten unverseifbaren Anteile vermehrt. Der aus Ätherextrakt gewonnene, in Methylalkohol gelöste Anteil ergibt *Tortelli-Jaffesche* Reaktion und vermehrt die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung, wie in Versuch 1 der Tabelle 3 dargetan. Der von kristallisierten Sterinen befreite, in Methylalkohol unlösliche, unverseifbare Anteil steigert die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung, und diese Wirkung ist von der verfütterten Menge abhängig, wie aus den Versuchen 1 – 4 der Tabelle 4 ersichtlich.

Die vermehrte Gallen- und Gallensäureausscheidung des unverseifbaren, in Methylalkohol unlöslichen Anteiles wird durch Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen in Chloroformlösung verstärkt. Der bestrahlte Anteil vermehrt die Gallen- und Gallensäureausscheidung, aber in solch unwesentlichen Mengen, dass bei Nichtbestrahlung die Gallen- und Gallensäureausscheidung nicht beeinflusst wird, wie aus den Versuchen 5 und 6 der Tabelle 4 ersichtlich.

Auf Grund der Daten kann man sehr wohl die Auffassung gewinnen, dass in dem unverseifbaren Anteile des alkoholischen Extraktes von Okara die Gallen- und Gallensäureausscheidung vermehrende, nicht kristallisierte Substanzen enthalten sind, von denen die eine in Methylalkohol löslich, die andere darin zwar unlöslich, in Chloroform aber löslich ist. Die in Methylalkohol unlösliche Substanz verstärkt durch

Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen ihre die Gallen- und Gallensäureausscheidung steigernde Wirkung. Was das Wesen der die Gallen- und Gallensäureausscheidung vermehrenden Substanzen in Okara anbelangt, so wird diese Frage weiter verfolgt werden. Höchstwahrscheinlich beruht es auf den Sterinen der Ergosterinreihe in Okara, da der mit Ultraviolettstrahlen bestrahlte, in Methylalkohol unlösliche, in Chloroform aber lösliche unverseifbare Anteil die Gallen- und Gallensäureausscheidung stärker vermehrt als der unbestrahlte, und er deutlich die *Tortelli-Jaffesche* Reaktion nach *Helbron* (1930) zeigt.

Experimenteller Teil.

Methodik.

Als Versuchsobjekte dienten Hunde, und die Gallenblasenfistelanlegung, das Sammeln der Galle sowie die Gallensäurebestimmung in der Galle wurden genau in der Weise ausgeführt, wie sie bereits den vorigen Mitteilungen zu Grunde gelegen hat und dargelegt worden ist.

1) Versuch mit alkoholischem Extrakte von Okara (Tabelle 1).

Bei diesem Versuche wurden die Hunde mit einer bestimmten Nahrung, analog den Versuchen der vorigen Mitteilungen, gefüttert, ohne dass man sie die Galle aus der Fistel ablecken liess. Während der Versuchszeit wurden den Hunden einmal 20 g alkoholischen Extraktes von Okara mit der bestimmten Nahrung verabreicht und sein Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung beobachtet.

35 kg Okara wurden mit der 10 fachen Menge Alkohol extrahiert,

Tabelle 1.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge	Spez. Gewicht	Aminostickstoff	Aminostickstoff		Taurocholsäure	Bemerkungen
				in 1 cc Galle	in 6 Stunden		
April	cc		mg	mg	mg	mg	
2	40	1015	0.37	0.338	13.52	496.29	
3	28	1015	0.37	0.248	6.92	254.10	
4	18	1013	0.35	0.277	4.99	183.23	← alkoholischer Extrakt 20 g gefüttert
5	30	1016	0.32	0.209	7.11	261.08	
6	21	1014	0.34	0.330	6.93	254.47	
7	17	1013	0.31	0.258	4.39	162.20	

Versuch 2.

11	33	1014	0.33	0.193	6.36	333.54	
12	31	1013	0.35	0.185	5.74	200.73	
13	35	1013	0.34	0.168	5.88	215.91	
14	28	1014	0.36	0.167	4.68	171.85	
15	20	1012	0.37	0.151	3.02	110.89	
16	28	1015	0.36	0.146	4.08	149.82	← 20 g gefüttert
17	19	1012	0.35	0.155	2.95	108.32	
18	15	1013	0.34	0.132	1.98	52.71	

bis das Filtrat farblos blieb. Der gesamte alkoholische Extrakt wurde in Vakuum verdunstet und wiederum in 1 Liter eines 98%igen Alkohols gelöst. 50 cc dieses alkoholischen Extraktes wurden auf dem Wasserbade verdampft, der 20 g betragende Rückstand wurde zum Versuche verwendet. Aus den Versuchen 1 und 2 der Tabelle 1 lässt sich ersehen, dass die im Laufe der Tage allmählich abnehmende Gallen- und Gallensäureausscheidung an dem auf die Zufuhr des alkoholischen Extraktes von Okara folgenden Tage steigt, um dann allmählich wieder abzunehmen. Die Zunahme der Gallenmenge beträgt 40–66.6%, die der Gallensäuremenge zeigt aber eine 35.1–42.5%ige Steigerung.

2) Versuch mit dem rohen, unverseifbaren Anteile des alkoholischen Extraktes aus Okara (Tabelle 2).

Der übrige alkoholische Extrakt wurde noch mit 1 Liter eines 98%igen Alkohols und 400 g Kaliumhydroxyd versetzt, 6 Stunden lang auf dem Wasserbade unter Rückfluss gekocht und filtriert. Das Filtrat wurde in Vakuum eingedampft, bis das Ganze ca. 1 Liter betrug. Das erwärmte Filtrat wurde dann mit 1 Liter einer 28%igen heissen alkoholischen Kalziumchloridlösung versetzt. Nach Ablauf einer Stunde wurde das Gemisch unter Kühlung mit Kältemischung von den abgeschiedenen Kalziumseifen abfiltriert, von dem überschüssigen Kalzium durch Kohlensäure befreit und von dem abgeschiedenen Kalziumkarbonate abfiltriert.

Das Filtrat wurde in Vakuum bis zum Trocknen eingeeengt und der sirupöse bräunliche Rückstand mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und in Zimmertemperatur verdunstet. Dieser Rückstand, 0.5 g, wurde mit der Nahrung an die Hunde verfüttert und der Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung untersucht. Aus den Versuchen 1 und 2 der Tabelle 2 wird ersichtlich, dass die Zunahme der Gallenmenge 41.2–42.8% beträgt und die Gallensäuremenge eine 31–51%ige Steigerung aufweist.

Tabelle 2.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge	Spez. Gewicht	Aminostickstoff	Aminostickstoff		Taurocholsäure	Bemerkungen
				in 1 cc Galle	in 6 Stunden		
Mai	cc		mg	mg	mg	mg	
21	22	1017	0.43	0.401	8.82	323.87	
22	20	1016	0.36	0.370	7.40	271.73	
23	20	1016	0.40	0.365	7.30	268.06	
24	17	1015	0.42	0.292	4.96	182.13	Ätherextrakt des unverseifbaren Anteiles (0.5 g)
25	24	1017	0.34	0.271	6.50	238.68	
26	19	1014	0.43	0.283	5.38	197.55	
27	10	1014	0.40	0.155	1.55	56.92	

Versuch 2.

21	19	1013	0.35	0.384	7.29	267.69	
22	20	1014	0.32	0.215	4.30	157.89	
23	14	1012	0.45	0.191	2.67	98.04	
24	20	1014	0.33	0.203	4.06	149.08	" (0.5 g)
25	21	1013	0.34	0.182	3.82	140.27	
26	18	1013	0.32	0.170	3.06	112.36	

3) Versuch mit methylalkoholischem Extrakte (Tabelle 3).

Der ätherische Extrakt wurde in Methylalkohol gelöst. Aus dieser Lösung schied sich beim Abkühlen mit Kältemischung eine gelblich-braune Masse ab, die ca. 6.0 g betrug. 0.2 g davon wurde den Hunden mit der Nahrung gegeben und der Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung untersucht. Diese Masse ergibt bei der *Liebermannschen* Reaktion violettrote, blauviolette, dann blaugrüne Farbe, bei der *Salkowskischen* gelbe, rote, dann weinrote Farbe, sowie auch die *Tortelli-Jaffesche* Reaktion nach *Hellbron*.

Auf Grund der Daten scheinen mir in dieser Masse die Sterine der Ergosterinreihe und der Cholesterinreihe enthalten zu sein. Aus dem Versuche 1 der Tabelle 3 wird ersichtlich, dass die die *Tortelli-Jaffesche* Reaktion ergebende Masse die Gallen- und Gallensäureausscheidung des Hundes vermehrt. Die Zunahme der Gallenmenge beträgt 66.6%, die Gallensäuremenge erfährt eine 139.2%ige Steigerung. Diese getrocknete Masse wurde wiederum unter Erwärmung in Methylalkohol gelöst und von dem ungelösten Rückstand abfiltriert. Die in Methylalkohol nicht gelöste harzige Masse betrug ca. 5.0 g. Aus dem methylalkoholischen Filtrate schied sich beim Abkühlen eine in Tafeln kristallisierende Masse ab, die ca. 0.7 g betrug.

Die Kristallmasse wurde aus verdünntem Methylalkohol mehrmals umkristallisiert. Der in der Trockenpistole getrocknete Kristall schmilzt bei 133°C und ist optisch linksdrehend. Der Kristall, 0.2 g, wurde den Hunden mit der Nahrung gegeben und der Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung untersucht.

Aus dem Versuche 2 der Tabelle 3 ergibt sich, dass der Kristall keinen Einfluss auf die Gallen- und Gallensäureausscheidung ausübt. Diese Daten stimmen mit dem Ergebnis von *Schönheimer* gut überein, obwohl die Anzahl der Versuche nicht ausreichend ist.

Tabelle 3.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge	Spez. Gewicht	Aminostickstoff	Aminostickstoff		Taurocholsäure	Bemerkungen
				in 1 cc Galle	in 6 Stunden		
Juni	cc		mg	mg	mg	mg	
9	18	1012	0.31	0.453	8.16	299.27	
10	12	1012	0.33	0.390	4.68	171.85	
11	9	1013	0.45	0.251	2.26	82.99	methylalkoholischer Extrakt des unverseifbaren Anteiles (0.2 g)
12	15	1013	0.48	0.361	5.42	199.02	
13	10	1012	0.45	0.202	2.04	74.91	
14	7	1013	0.43	0.227	1.59	58.38	

Versuch 2.

August							
15	35	1020	0.29	0.322	11.27	353.84	
16	20	1019	9.30	0.281	5.62	206.37	
17	21	1018	0.31	0.263	5.52	202.69	
18	15	1020	0.30	0.201	3.01	110.53	
19	16	1019	0.32	0.154	2.46	90.53	← Stigmasterin u. ein Sterin (0.2 g)
20	10	1019	0.29	0.167	1.67	61.32	

4) Isolierung von Stigmasterin und einem Sterine aus dem methylalkoholischen Extrakte.

Die in Tafeln kristallisierte Masse wurde nach der üblichen Methode mit Essigsäureanhydrid in Azetat umgewandelt. Das in Nadeln kristallisierte Azetat wurde nach *Windaus* in einer Ätherlösung mit Brom-Eisessiggemisch bromiert. Diese bromierte Masse wurde der fraktionierten Kristallisation aus Alkohol unterworfen. Der in Alkohol schwer lösliche Anteil wurde aus Alkohol-Chloroform umkristallisiert und ein vier- oder sechseckiger Tafelkristal erzielt, der bei 212°C unter Braunfärbung schmilzt und dem Stigmasterinazetatetetrabromid entspricht. Aus dem in Alkohol leicht löslichen Anteile wurde ein in vierseitigen

Tafeln kristallisierender Kristall erhalten, der bromhaltig ist und bei 157°C schmilzt. Wegen Mangels an Material fehlt leider die Analyse.

5) Versuch mit dem in Methylalkohol unlöslichen Anteile.

Der von Stigmasterin usw. befreite, in Methylalkohol unlösliche Anteil ergibt bei *Liebermannscher* Reaktion gelbe, rote, dann weinrote Farbe, die Chloroformschicht violette Farbe.

Diese in Methylalkohol unlösliche Masse wurde als solche oder unter Bestrahlung mit Ultraviolettstrahlen in Chloroformlösung den Hunden mit der bestimmten Nahrung verabreicht und ihr Einfluss auf die Gallen- sowie Gallensäureausscheidung untersucht. Sowohl die bestrahlte als auch die unbestrahlte Masse vermehrt die Gallen- und Gallensäureausscheidung, obwohl die Vermehrung der Ausscheidung von der Menge der verfütterten Massen abhängig ist, wie dies in den Versuchen 1–6 der Tabelle 4 gezeigt wird. Die Zunahme der Gallenmenge beträgt bei Verfütterung der unbestrahlten Masse 19–50% und bei der der bestrahlten 50–87.5%. Die Gallensäuremenge zeigt bei Verfütterung der unbestrahlten Masse eine 64–71.5%ige, bei der der bestrahlten eine 30.1–77.6%ige Steigerung.

Aus den Versuchen 1, 2, 5 und 6 der Tabelle 4 wird ersichtlich, dass die Vermehrung der Gallen- und Gallensäureausscheidung noch nicht bei Verfütterung von 0.2 g der Substanz, sondern erst bei der von 0.5 g eintritt, und dass diese Vermehrung selbst bei der von 0.5 g der bestrahlten Substanz deutlich gesteigert wird.

Diese die Gallen- und Gallensäureausscheidung vermehrende, in Methylalkohol unlösliche Masse ist in Chloroform leicht löslich.

Auf Grund der Daten scheint mir die Substanz ein Sterin aus der Ergosterinreihe zu sein. Daher kann man wohl den Schluss ziehen,

Tabelle 4.
Versuch 1.

Datum	Ausgeschied. Gallenmenge	Spez. Gewicht	Aminostickstoff	Aminostickstoff		Thurocholsäure	Bemerkungen
				in 1 cc Galle	in 6 Stunden		
Oktober	cc		mg	mg	mg	mg	
26	40	1018	0.40	0.291	11.64	427.42	
27	22	1020	0.39	0.398	8.76	321.67	
28	20	1020	0.38	0.450	9.00	330.48	
29	15	1019	0.40	0.295	4.43	162.67	unlöslich in Methylalkohol (0.2 g)
30	13	1018	0.35	0.273	3.55	130.36	
31	14	1019	0.38	0.172	2.41	88.50	

Die Gallensäurebildung (4).

403

Versuch 2.

Novemb.							
2	50	1016	0.32	0.302	15.10	554.47	
3	49	1016	0.36	0.213	10.44	383.36	
4	30	1014	0.30	0.291	8.73	320.57	
5	21	1013	0.32	0.264	5.54	203.43	
6	25	1015	0.31	0.238	5.95	218.48	← ☞ (0.5 g)
7	23	1016	0.32	0.275	6.33	232.44	
8	18	1014	0.30	0.240	4.32	158.63	
9	16	1015	0.32	0.273	4.36	160.09	

Versuch 3.

Novemb.							
13	53	1015	0.32	0.311	16.48	607.15	
14	48	1015	0.30	0.310	14.88	546.39	
15	47	1016	0.31	0.245	11.52	423.01	
16	33	1017	0.30	0.273	9.01	330.85	
17	20	1018	0.29	0.280	5.60	205.63	← unlöslich in Methylalkohol (1.5 g)
18	30	1016	0.33	0.312	9.36	342.79	
19	22	1015	0.35	0.276	6.07	222.89	
20	19	1018	0.32	0.239	4.54	166.71	

Versuch 4.

Novemb.							
23	35	1014	0.25	0.358	12.53	460.10	
24	37	1015	0.22	0.301	11.14	409.06	
25	23	1015	0.28	0.362	8.33	305.88	
26	19	1013	0.33	0.351	6.67	244.92	← unlöslich in Methylalkohol (1.5 g)
27	26	1016	0.24	0.340	8.84	345.60	
28	20	1014	0.34	0.297	5.94	218.12	
29	14	1014	0.40	0.253	3.54	129.99	

Versuch 5.

30 Dezemb.							
1	20	1012	0.36	0.511	10.22	375.28	
2	14	1013	0.33	0.483	6.78	248.96	
3	8	1012	0.35	0.370	2.96	106.69	← bestrahlt, unlöslich in Methylalkohol (0.5 g)
4	15	1014	0.32	0.344	5.16	189.48	
5	10	1014	0.37	0.245	2.45	89.96	
5	6	1013	0.34	0.309	1.85	67.93	

Versuch 6.

9	30	1015	0.31	0.401	12.03	417.42	bestrahlt, unlöslich in Methylalkohol (0.5 g)
10	31	1015	0.32	0.398	12.38	442.78	
11	25	1012	0.38	0.352	8.80	323.14	
12	18	1013	0.34	0.293	5.27	193.51	
13	27	1016	0.33	0.254	6.86	251.90	
14	21	1012	0.29	0.246	5.16	189.48	
15	17	1015	0.28	0.251	4.27	156.80	

dass im alkoholischen Extrakte ein die Gallen- und Gallensäureauscheidung vermehrendes Sterin enthalten ist und dass daraus die Gallensäure gebildet zu werden scheint.

Literatur.

Fuziwara, K. u. *Fukase, T.*, noch nicht publiziert. — *Higashi, S.*, Arb. a. d. Med. Univ. Okayama. 1, 582, 1930. — *Izume, S.*, *Yoshimaru, Y.* u. *Komatsubara, I.*, Journ. of Bioch. 10, 177, 1928. — *Keimatsu, S.*, Chem. Ztg. 839, 1911. — *Mathes, H.* u. *Dahle, A.*, Arch. d. Pharmazie, 249, 436, 1911. — *Hellbron, M. I.* u. *Spring, F. S.*, Bioch. Jl. 24, 133, 1930. — *Schönheimer, R.* u. *Yuasa, D.*, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 180, 1-37, 1929. — *Windaus, A.* u. *Hauth, A.*, Ber. d. deut. chem. Gesellschaft 39, 4378, 1906. — *Windaus, A.* u. *Brunken, J.*, Zeitschr. f. physiolog. Chem. 140, 47, 1924.